

PENETAPAN KADAR AMPISILIN DALAM TABLET DENGAN NAMA GENERIK DAN DAGANG MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)

QUANTITATIVE ANALYSIS OF GENERIC AND BRANDED NAME AMPICILLIN IN TABLETS USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

Effendy De Lux Putra

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sumatera Utara, Medan

ABSTRAK

Telah dilakukan penetapan kadar ampisilin dalam tablet dengan nama generik dan dagang menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) metode fasa balik, kolom Selectosphere C18 10 μm (25cm x 4,6 mm), laju aliran 2,5ml/menit, sensitivitas 0,08 AUFS, detektor uv 254nm, diperoleh waktu tambat ampisilin yaitu 5 menit.

Penentuan linearitas kurva kalibrasi menunjukkan hubungan yang linier antara luas puncak dengan konsentrasi pada rentang 200 sampai 700 $\mu\text{g/ml}$ dengan koefisien korelasi, $r = 0,9984$ dan dari perhitungan diperoleh persamaan regresi $Y = 249,89 x - 430,15$.

Uji perolehan kembali dari ampisilin baku (Pharos) yang diserbukkan bersama dengan bahan tambahan yang umumnya digunakan dalam pembuatan tablet memberikan hasil $99,36\% \leq \mu \leq 104,76\%$ dengan standar deviasi = 1,6447; kesalahan relatif = 2,06% dan koefisien variasi = 1,61%.

Hasil penetapan kadar ampisilin dalam sediaan tablet dengan nama generik = $99,69\% \leq \mu \leq 104,99\%$ (PT. Indofarma); $91,03\% \leq \mu \leq 97,53\%$ (PT. Phapros); $95,70\% \leq \mu \leq 102,44\%$ (PT. Kimia Farma); dan untuk sediaan dengan nama dagang yaitu Binotal (PT. Bayer) = $93,38\% \leq \mu \leq 99,44\%$; Kalpicillin (PT. Kalbe Farma) = $91,41\% \leq \mu \leq 97,95\%$; Parpicilin (PT. Prafa) = $97,19\% \leq \mu \leq 101,67\%$ dan Cetacilin (PT. Soho) = $95,60\% \leq \mu \leq 98,58\%$.

Semua sampel yang diuji memenuhi persyaratan kadar yang tercantum dalam Farmakope Indonesia edisi IV (1995), yaitu mengandung ampisilin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket..

Kata kunci : KCKT, Ampisilin, penetapan kadar

ABSTRACT

The determination of ampicillin in tablets of branded and generic names by reversed phase high performance liquid chromatography (HPLC) had been carried out. Using column selectosphere C18 (25cm x 4,6 mm) as stationary phase; water : acetonitrile : potassium phosphate 1 M : acetic acid 1 N (90+10) V/V as mobile phase; flow rate = 2,5 ml/minute; sensitivity = 0,08 AUFS and uv detector at 254 nm wave length. Identification of ampicillin BPF, ampicillin (Pharos), and ampicillin in tablets of branded and generic names got the retention time 5 minutes.

Determination of calibration curve linearity showed a linear correlation between the peak area versus concentrations from 200 to 700 $\mu\text{g/ml}$ with the correlation coefficient, $r = 0,9984$ and got the equation of regression $Y = 249,89 X - 430,15$. The recovery test of ampicillin (Pharos) showed the concentration $99,36\% \leq \mu \leq 104,76\%$ with deviation standard = 1,6447; relative error = 2,06% and coefficient of variation = 1,61%. The quantification of ampicillin in tablets with generic names showed the concentration = $99,69\% \leq \mu \leq 104,99\%$ (PT. Indofarma); $91,03\% \leq \mu \leq 97,53\%$ (PT. Phapros); $95,70\% \leq \mu \leq 102,44\%$ (PT. Kimia

Farma); and for tablets of branded names namely : Binotal (PT. Bayer) = 93,38% ≤ μ ≤ 99,44%; Kalpicillin (PT. Kalbe Farma) = 91,41% ≤ μ ≤ 97, 95%; Parpicilin (PT, Prafa) = 97,19% ≤ μ ≤ 101,67% and Cetacilin (PT. Soho) = 95,60% ≤ μ ≤ 98,58%.

All samples fulfilled the requirement of Farmakope Indonesia fourth edition (1995) namely containing ampicillin not less than 90,0% and not more than 120,0% from the label declared.

Key words : HPLC, Ampicillin, assay

PENDAHULUAN

Penisilin pertama kali diisolasi dari kultur jamur *Penicillium notatum* dan *Penicillium chrysogenum*. Dari *P. chrysogenum* telah berhasil diisolasi asam 6-aminopenisilat (6-amino penicillanic acid = 6-APA), yang digunakan sebagai bahan dasar sintesis sejumlah besar penisilin (penisilin semisintetik). Turunan penisilin adalah senyawa bakterisid dengan indeks terapetik tinggi. Penisilin sering digunakan sebagai obat pilihan untuk pencegahan dan pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri tertentu pada penderita yang tidak alergi (Istiantoro dan Gan, 1999).

Sampai saat ini ampicilin masih digunakan secara luas sebagai obat pilihan untuk pengobatan infeksi. Hal ini dikarenakan ampicilin mempunyai spektrum antimikroba yang luas, dimana senyawa ini aktif terhadap *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertusis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *N meningitidis*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, dan berbagai galur *E. coli*. Ampicilin banyak digunakan dalam pengobatan infeksi pada saluran napas dan saluran seni, gonorru, gastroenteritis, dan meningitis (Wattimena, 1991).

Ampicilin stabil terhadap asam dan karena itu dapat digunakan secara oral. Laju absorpsinya sekitar 50% dan akan meningkat dengan adanya makanan. Obat terikat oleh protein plasma lebih kurang 20%. Kadar darah maksimalnya dicapai dalam 5 menit setelah injeksi intra vena, 1 jam setelah injeksi intra muskular, dan 2 jam setelah pemberian oral (Mutschler, 1991).

Ampicilin berupa serbuk hablur; putih; praktis tidak berbau; rasa pahit; higroskopis. Garann trihidratnya stabil pada suhu kamar. (Anonim, 1979; Anonim, 1995).

Di dalam perdagangan ampicilin dapat dijumpai dalam bentuk sediaan kapsul, tablet, serbuk untuk suspensi oral, dan injeksi. Sediaan-sediaan ini beredar dengan nama dagang dan nama generik. Dimana sediaan dengan nama dagang antara lain Binotal (Bayer), Cetacillin (Soho), Kalpicillin (Kalbe Farma), Parpicillin (Prafa). Sedangkan dengan nama generik dikeluarkan oleh Kimia Farma, Indofarma, dan Phapros.

Di dalam beberapa literatur ampicilin dapat ditentukan kadarnya secara : titrasi sebagai basa (Kovar, 1987), spektrofotometri ultra violet (Depkes RI, 1979), kromatografi cair kinerja tinggi dengan fase gerak air : asetonitril : KH₂PO₄ 1 M : asam asetat 1 N (909: 80: 10: 1) (Depkes RI, 1995), dan KCKT dengan fase gerak campuran 0,067 M KH₂PO₄ pH 4,6 : metanol (425 : 75) v/v (Munson, 1991). Sedangkan dalam sediaan tablet, kapsul, dan suspensi oral ditentukan secara iodometri (Depkes RI, 1995).

Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) memiliki banyak keuntungan, antara lain cepat, daya pisahnya baik, peka, ideal untuk molekul besar dan ion, mudah untuk memperoleh kembali cuplikan, kolom dapat digunakan berulang kali, dan tekniknya tidak memerlukan keahlian khusus, serta perangkatnya dapat digunakan secara otomatis dan kuantitatif (Hamilton dan Sewell, 1977; Johnson dan Stevenson, 1991).

Berdasarkan hal tersebut di atas, penulis tertarik menggunakan metode KCKT untuk penetapan kadar ampicilin dalam sediaan tablet dengan nama dagang dan gencrik yang beredar di pasaran dan membandingkan hasil yang diperoleh dengan persyaratan yang tercantum dalam Farmakope Indonesia Edisi V, (Anonim 1995).

Uji validasi dari metode ini dilakukan penetapan kadar ampicilin baku yang diserbukkan bersama dengan bahan tambahan yang umumnya digunakan dalam pembuatan tablet.

METODOLOGI

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu unit alat KCKT (Perkin-Elmer) yang terdiri dari vacuum degasser, pompa, UV/Vis detector, integrator, printer (Okidata), kolom Selectosphere C18 (4,6 x 250 mm).

Bahan

Bahan kimia yang tidak disebutkan asalnya semua dari (E.Merck dengan derajat p.a., atau *Pharmaceutical Grade*), laktosa, amylum manihot, talkum, Mg stearat, aquades, ampisilin BPFI (PPOM Jakarta), ampisilin baku (Phapros), Kaplet Ampicillin (Kimia Farma), Kaplet Ampicillin (Indofarma), Kaplet Ampicillin (Phapros), Kaplet Binotal (Bayer), Kaplet Kalpicillin (Kalbe Farma), Kaplet Parpicillin (Prafa), Kaplet Cetacillin (Soho).

Pembuatan Larutan KH_2PO_4 1 M (Dilarutkan sebanyak 136,09 gram KH_2PO_4 dalam air bebas CO_2 , sampai 1000,0 ml), asam asetat 1 N dibuat dari 60 ml asam asetat glassial diencerkan dengan air bebas oksigen sampai 1000,0 ml. Pembuatan pengencer digunakan untuk melarutkan yang dibuat dari 10 ml KH_2PO_4 1 M dicampur dengan 1 ml asam asetat 1 N, kemudian diencerkan dengan air sampai 1000,0 ml.

Pembuatan Fase Gerak

Dicampurkan sebanyak 909 ml air, 80 ml asetonitril, 10 ml KH_2PO_4 1 M, dan 1 ml asam asetat 1M, dimasukkan dalam botol kaca, disaring menggunakan millipore 0,45 μm , kemudian diawaudarakan selama 15 menit. Komposisi fase gerak (air : asetonitril : KH_2PO_4 1 M : asam asetat 1 M = 909 : 80 : 10 : 1) V/V

Penentuan Kualitatif

Ampisilin BPFI, ampisilin baku (Phapros), kaplet Ampicillin (Kimia Farma), kaplet Ampicillin (Indofarma), kaplet Ampicillin (Phapros), kaplet Binotal (Bayer), kaplet Kalpicillin (Kalbe Farma), kaplet Parpicillin (Prafa), dan kaplet Cetacillin (Soho), dengan konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$ masing-masing disuntikkan ke sistem KCKT dengan volume penyuntikan 20 μl . Puncak yang ditunjukkan diperhatikan dan dicatat waktu tambatnya.

Penentuan Kuantitatif

Pembuatan Larutan Induk Ampisilin BPFI (LIB) Ditimbang seksama sejumlah 25,0 mg Ampisilin BPFI lalu dimasukkan dalam labu tentukur 25 ml, dilarutkan dengan pengencer sampai garis tanda hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$, disaring, filtratnya digunakan sebagai larutan induk.

Pembuatan Kurva Kalibrasi Ampisilin BPFI

Dari LIB dipipet sebanyak 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 ml dan masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 ml lalu dicukupkan dengan pengencer sampai garis tanda sehingga diperoleh konsentrasi 200, 300, 400, 500, 600, dan 700 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian masing-masing konsentrasi diinjeksikan sebanyak 6 kali ke sistem KCKT pada panjang gelombang 254 nm dengan laju alir fase gerak 2,5 ml/menit, lalu dicatat luas puncaknya yang ditunjukkan pada kromatogram dan dibuat kurva kalibrasi serta persamaan regresinya.

Uji Perolehan Kembali

Ditimbang sebanyak 10 gram ampisilin baku (Phapros), 600 mg amylum manihot, 120 mg talkum 120 mg Mg stearat, dan 1,16 gram laktosa, dicampurkan lalu digerus homogen. Kemudian ditimbang seksama sejumlah 120 mg serbuk campuran, dimasukkan dalam labu tentukur 100 ml dan dilarutkan dengan pengencer sampai larut sempurna. Lalu ditambahkan pengencer sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$, kemudian disaring, filtratnya yang jernih digunakan sebagai larutan uji. Dari larutan

ini diaambil 5,0 ml, dimasukkan dalam labu tentukur 10 ml, ditambahkan pengencer sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 500 µg/ml. Larutan ini diinjeksikan ke sistem KCKT sebanyak 6 kali pada panjang gelombang 254 nm dan laju aliran 2,5 ml/menit lalu dihitung kadarnya.

Penetapan Kadar Kaplet Ampisilin

Ditimbang 20 kaplet ampisilin, kemudian digerus, ditimbang seksama sejumlah serbuk ampisilin setara dengan 100 mg ampisilin anhidrat, dimasukkan dalam labu tentukur 100 ml, dilarutkan dengan pengencer sampai larut sempurna, dan ditambahkan pengencer sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 µg/ml, disaring, filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Kemudian dari larutan ini dipipet 5,0 ml, dimasukkan dalam labu tentukur 10 ml dan ditambahkan pengencer sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 500 µg/ml. Larutan ini diinjeksikan sebanyak 6 kali ke sistem KCKT pada panjang gelombang 254 nm dengan laju alir 2,5 ml/menit. Prosedur ini dilakukan untuk kaplet Ampicillin (Kimia Farma, Indofarma, Phapros), kaplet Binotal (Bayer), Kaplet Kalpicillin (Kalbe Farma), Kaplet Parpicillin (Prafa), dan Kaplet Cetacillin (Soho).

Analisa Data secara Statistik

Untuk menghitung kadar sebenarnya dari hasil percobaan dapat digunakan rumus :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Keterangan :

SD = Standar Deviasi; X = kadar sampel; \bar{x} = kadar rata-rata sampel; n = jumlah perlakuan.

Dengan dasar penolakan data adalah $(X - \bar{X}) > 2,58 SD$

Untuk mencari kadar sebenarnya dengan $\alpha = 0,01$, dk = n-1, dapat digunakan rumus :

$$\mu = \bar{X} \pm t_{(1-1/2\alpha), dk} \cdot s$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Menurut Farmakope Indonesia edisi IV (Anonim 1995), Penetapan kadar ampisilin dalam sediaan tablet dilakukan secara Iodometri. Dalam penelitian ini telah dicoba dengan cara yang berbeda yaitu dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) seperti yang tercantum dalam monografi Ampisilin (Anonim 1995) menggunakan pelarut campuran KH_2PO_4 1 M dan Asam asetat 1 M, fase gerak campuran air : Asetonitril : KH_2PO_4 1 M : Asam asetat 1 M (909: 80: 10: 1), kolom C18 (4 mm x 30 cm), laju aliran 2,0 ml/menit, detektor spektrofotometer UV pada lambda 254 nm dan volume penyuntikan 20,0 µl, dengan kondisi yang sedikit berbeda yaitu dengan menggunakan kolom C18 (4,6 x 250 mm) dan laju aliran 2,5 ml/menit.

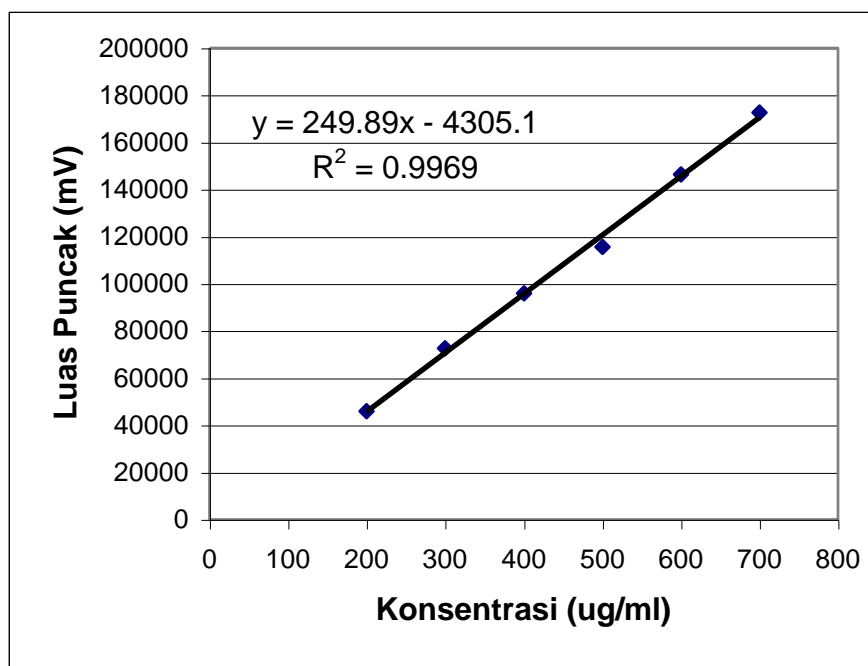
Dari hasil uji identifikasi ampisilin diperoleh waktu tambat yang sama antara ampisilin BPFI, ampisilin baku (Phapros), dan ampisilin yang terdapat dalam sediaan kaplet Ampicillin (Kimia Farma), kaplet Ampicillin (Indofarma), kaplet Ampicillin (Phapros), kaplet Binotal (Bayer), kaplet Kalpicillin (Kalbe Farma), kaplet Parpicillin (Prafa), dan kaplet Cetacillin (Soho) yaitu 5 menit. Hal ini menunjukkan bahwa semua tablet yang dianalisis hanya mengandung satu senyawa yaitu ampisilin.

Untuk membuat kurva kalibrasi dibuat satu seri larutan standar dengan konsentrasi 200 - 700 µg/ml dan diinjeksikan masing-masing konsentrasi 6 kali ke sistem KCKT, diperoleh data seperti pada Tabel 1

Tabel 1. Data hasil penyuntikan larutan Ampisillin BPF1

No	Konsentrasi (µg/ml)	Luas Puncak						Rata-rata
		I	II	III	IV	V	VI	
1.	200	45571	44502	45652	45387	46323	47802	45872,83
2.	300	74902	73096	73751	73734	70399	69817	72646,50
3.	400	94027	96401	93557	91148	101793	98289	95869,17
4.	500	114374	112952	118453	115465	116493	115471	115534,67
5.	600	153557	151773	147918	138062	135445	151494	146374,83
6.	700	164546	170610	175855	172666	174585	177392	172609,00

Hasil penentuan linieritas kurva kalibrasi dari ampisilin BPF1 dengan rentang konsentrasi 200 sampai 700 µg/ml yang diukur pada panjang gelombang 254 nm dengan laju aliran 2,5 ml/menit, didapat hubungan yang linier antara konsentrasi versus luas puncak dengan koefisien korelasi (r) = 0,9984 dengan persamaan regresi $Y = 249,89 X - 4305,15$ (gambar 1).



Gambar 1. Kurva regresi linier larutan ampisillin, konsentrasi versus luas puncak. Persamaan garis : $Y = 249,89 X - 4305,1$ dan koefisien korelasi, $R = 0,9969$

Dari hasil uji perolehan kembali dari ampisilin baku (Phapros), secara statistik diperoleh kadar ampisilin sebenarnya $99,36\% \leq \mu \leq 104,76\%$ dengan kesalahan relatif (KR) = 2,06% dan koefisien korelasi (KV) = 1,61%. Sedangkan dalam sertifikat analisisnya dituliskan bahwa kadar dari ampisilin tersebut adalah 98,88%. Dari parameter kesalahan relatif dan koefisien variasi di atas membuktikan bahwa metoda yang digunakan dalam penelitian ini dapat diterima untuk penetapan kadar ampisilin dalam sediaan tablet secara KCKT.

Hasil pengolahan data penyuntikan kaplet Ampisillin yang ditetapkan kadarnya dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 2. Hasil temuan kadar ampisilin dari berbagai sediaan setelah dihitung dengan kurva regresi linier

Baku (Phapros)		Kimia Farma		Indofarma		Kaplet Phapros	
Luas Puncak (mV)	Kadar (%)	Luas Puncak (mV)	Kadar (%)	Luas Puncak (mV)	Kadar (%)	Luas Puncak (mV)	Kadar (%)
12,45	102,01	12,04	100,51	12,50	104,19	11,01	92,09
12,32	100,92	11,96	99,83	12,42	103,53	10,99	92,06
12,30	100,81	11,54	96,51	12,05	100,61	11,33	94,78
12,85	105,16	12,10	101,01	12,34	102,89	11,61	97,02
12,50	102,36	11,99	100,13	12,00	100,16	11,44	95,68
12,34	101,08	11,54	96,44	12,31	102,65	11,24	94,07
Purata	102,05 ± 1,501	Purata	99,071 ± 1,871	Purata	102,33 ± 1,470	Purata	94,28 ± 1,802

Tabel 3. Hasil temuan kadar ampisilin dalam beberapa sediaan setelah dihitung dengan kurva regresi linier

Kaplet Binotal (Bayer)		Kalpicilin (Kalbe Farma)		Parpicilin (Prafa)		Cetacilin (Soho)	
Luas Puncak (mV)	Kadar (%)	Luas Puncak (mV)	Kadar (%)	Luas Puncak (mV)	Kadar (%)	Luas Puncak (mV)	Kadar (%)
11,32	94,73	11,66	97,43	11,81	98,65	11,50	96,14
11,32	94,67	11,11	92,99	11,84	98,88	11,51	96,20
11,47	95,89	11,26	94,20	11,71	97,86	11,79	98,52
11,69	97,64	11,23	93,98	12,20	101,82	11,60	96,98
11,72	97,96	11,58	96,82	11,92	99,51	11,61	97,04
11,31	94,59	11,07	92,66	11,96	99,88	11,69	97,67
Purata	95,91 ± 1,406	Purata	94,68 ± 1,816	Purata	99,43 ± 1,244	Purata	97,09 ± 0,825

Dari hasil percobaan yang dilakukan pada sediaan kaplet dengan nama dagang dan nama generik secara statistik diperoleh kadar ampisilin sebenarnya seperti data di bawah ini.

Tabel 4. Data kadar ampisilin dalam sediaan kaplet dengan nama dagang dan nama generik yang dianalisa secara KCKT

No.	Nama Sediaan Kaplet Ampisilin	Kadar Ampisilin
1.	Ampicillin (PT. Kimia Farma)	95,70% ≤ μ ≤ 102,44%
2.	Ampicillin (PT. Indofarma)	99,69 % ≤ μ ≤ 104,99%
3.	Ampicillin (PT. Phapros)	91,03% ≤ μ ≤ 97,63%
4.	Binnotal (PT. Bayer)	93,38% ≤ μ ≤ 98,44%
5.	Kalpicillin (PT. Kalbe Farma)	91,41% ≤ μ ≤ 97,95%
6.	Parpicillin (PT. Prafa)	97,19% ≤ μ ≤ 101,67%
7.	Cetacillin (PT. Soho)	95,60% ≤ μ ≤ 98,58%

Ketujuh sediaan kaplet dengan nama dagang dan generik yang ditentukan kadarnya keseluruhannya memenuhi persyaratan yang ditetapkan dalam Farmakope Indonesia edisi IV (1995) yaitu mengandung ampisilin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120% dari jumlah yang tertera pada etiket.

KESIMPULAN

Menurut Farmakope Indonesia edisi IV (1995), kadar ampisilin dalam sediaan tablet adalah tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0%. Dari hasil penelitian diperoleh kadar ampisilin sebenarnya dalam sediaan kaplet dengan nama generik untuk Ampicillin (PT. Kimia Farma) = 95,70% $\leq \mu \leq$ 102,44%; Ampicillin (PT. Indofarma) = 99,69% $\leq \mu \leq$ 104,99%; Ampicillin (PT. Phapros) = 91,03% $\leq \mu \leq$ 97,53%; Binotal (PT. Bayer) = 93,38% $\leq \mu \leq$ 98,44%; Kalpicillin (PT, Kalbe Farma) = 91,41% $\leq \mu \leq$ 97,95%; Parpicillin (PT. Prafa) = 97,19% $\leq \mu \leq$ 101,67%; dan Cetacillin (PT. Soho) = 95,60% $\leq \mu \leq$ 98,58%.

Kadar yang diperoleh dari hasil percobaan untuk semua kaplet ampisilin yang dianalisis memenuhi persyaratan kadar yang tertera pada Farmakope Indonesia edisi IV (1995) yaitu mengandung ampisilin $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansell, H.C (1989). *Introduction to Pharmaceutical Dosage Form*. Penerjemah Farida Ibrahim. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Cetakan pertama Edisi keempat. Penerbit UI Press. Jakarta. hal 204.
- Connors K.A., Amidon G.L., and Stella V.J (1992). *Chemical Stability of Pharmaceuticals*. Penerjemah Didik Gunawan. *Stabilitas Kimiawi Sediaan Farmasi*. Cetakan pertama, Edisi kedua. Penerbit IKIP Semarang Press. Semarang. hal 192
- Day, R. A., Underwood, A.L. (1994). *Quantitative Analysis*. Penerjemah Drs. R. Soendoro. *Kimia Analisa Kuantitatif*. Edisi keempat. Cetakan kelima. Penerbit Erlangga. Jakarta. hal 18 - 25
- De Lux Putra, E. (1994). *Beitrag Zur Stabilitätsanalytik Am Beispiel von Vitamin-A-Zubereitungen*. Dissertation an der Universität Würzburg. Germany. Page 14-54.
- Depkes RI. (1979). *Famakope Indonesia*. Edisi ketiga. Ditjen POM DEPKES RI. Jakarta. hal 91
- Depkes RI. (1995). *Famakope Indonesia*. Edisi keempat. Ditjen POM DEPKES RI. Jakarta. hal 103-105
- Hamilton R.J., and Sewell, P.A (1977), *Introduction to High Performance Liquid Chromatography*. by Chapman and Hall. London. page 1-2
- Hardman, J.G., and Limbird L.E (1996). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basic of Therapeutics*. Ninth Edition. by Mc. Graw Hill. page 1084-1085
- Istiantoro, Y.H., dan Gan, V.H. S (1995). *Penisilin, sefalosporin dan antibiotik betalaktam lainnya*. Dalam *Farmakologi dan Terapi*. Editor Istiantoro dan Gan. Edisi keempat. Bagian Farmakologi. FK UI. Penerbit UI Press. Jakarta. hal 622
- Johnson, E. L. and Stevenson, R. (1991). *Basic Liquid Chromatography*. Penerjemah Prof Dr. Kosasih Padmawinata. *Dasar Kromatografi Cair*. Penerbit ITB, Bandung. Hal 9
- Kovar, Auterhoff (1987). *Identifizierung von Arzneistoffen*. Penerjemah Dr. Sugiarso. *Identifikasi Obat*. Terbitan keempat. Penerbit ITB. Bandung. hal 89-90
- Munson, J. W (1991). *Pharmaceutical Analysis Modern Method. Part B*, Penerjemah Harjana. *Analisis Farmasi Metode Modern Parwa B*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal 73
- Mutschler, Ernst (1991). *Arzneimittelwirkungen*. Penerjemah Dr. Mathilda B. Widiyanto. *Dinamika Obat*. Edisi kelima. Penerbit ITB, Bandung. hal 641
- Wattimena, Joke R (1987). *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotika*. Penerbit Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. hal 75

Lampiran 1. Perhitungan persamaan regresi dari kurva kalibrasi larutan ampisilin BPFi yang diperoleh secara KCKT pada λ 254 nm

Tabel 1. Data hasil penyuntikan Apisilin BPFi

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Luas Puncak						Rata-rata
		I	II	III	IV	V	VI	
1.	200	45571	44502	45652	45387	46323	47802	45872,83
2.	300	74902	73096	73751	73734	70399	69817	72616,50
3.	400	94027	96401	93557	91148	101793	98289	95869,17
4.	500	114374	112952	118453	115465	116493	115471	115534,67
5.	600	153557	151773	147918	138062	135445	151494	146374,83
6.	700	164546	170610	175855	172666	174585	177392	172609,00

Tabel 2. Konsentrasi (X)-vs Luas Puncak (Y)

No	X($\mu\text{g/ml}$)	Y	XY	X ²	Y ²
1.	200	45872,83	9174566	40000	2104316532
2.	300	72616,50	21784950	90000	5273156072
3.	400	95869,17	38347668	160000	9190897756
4.	500	115534,67	57767335	250000	1,3348x10 ¹⁰
5.	600	146374,83	87824898	360000	2,1425x10 ¹⁰
6.	700	172609,00	120826300	490000	2,9794x10 ¹⁰
N=6	$\Sigma X=270$ 0 X=450	$\Sigma Y=648877$ Y=108146,17	$\Sigma XY=335725717$ XY=55954286,17	$\Sigma X^2=1390000$ X ² =231666,67	$\Sigma Y^2=8,11x10^{10}$ Y ² =1,35x10 ¹⁰

$$Y = a + bX$$

$$a = \frac{(\sum Y)(\sum X^2) - (\sum x)(\sum XY)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}$$

$$= \frac{(648877)(1390000) - (2700)(335725717)}{6(1390000) - (2700)^2}$$

$$= \frac{(9,0194 \times 10)}{8340000 - 7290000}$$

$$= -4305,15$$

$$b = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}$$

$$= \frac{6(335725717) - (2700)(648877)}{6(1390000) - (2700)^2}$$

$$= \frac{2014354302 - 175196700}{8340000 - 7290000}$$

$$= 249,89$$

$$Y = a + bX$$

Sehingga diperoleh persamaan regresi $Y = 04305,15 + 249,89 X$

Untuk mencari hubungan kadar (X) dengan luas puncak (Y), digunakan pengujian koefisien korelasi (r).

$$r = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[n(\sum X^2) - (\sum X)^2][n(\sum Y^2) - (\sum Y)^2]}}$$

$$= \frac{6(335725717) - (2700)(648877)}{\sqrt{[6(1390000) - (2700)^2][6(8,1136 \times 10^{10}) - (648877)^2]}}$$

$$= 0,9984$$

Lampiran 2. Analisa data secara statistik untuk mencari kadar sebenarnya dari larutan ampisilin baku (Phapros) pada uji perolehan kembali secara KCKT.

No.	Kadar (%) X	Luas Puncak Y	(X - X̄)	(X - X̄) ²
1.	102,01	124598	-0,05	0,0025
2.	100,92	123226	-1,14	1,2996
3.	100,81	123076	-1,25	1,5625
4.	105,16	128579	3,1	9,61
5.	102,36	125045	0,3	0,09
6.	101,08	123416	-0,98	0,9604
	ΣX=612,34 X̄=102,06			Σ(X-X̄) ² =13,525

Dasar penolakan data adalah $(X - \bar{X}) > 2,58 SD$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{13,525}{5}} = 1,6447$$

Sehingga kadar sebenarnya dengan $\alpha = 0,01$; $n = 6$ dan $dk = 5$ terletak antara :

$$\mu = \bar{X} \pm t_{(1-1/2 \alpha), dk} \times \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

$$= 102,06 \pm 4,03 \times \frac{1,6447}{\sqrt{6}}$$

$$= 102,06 \pm 2,70$$

$$99,36\% \leq \mu \leq 104,76\%$$

Dengan cara yang sama seperti di atas dapat dihitung kadar ampisilin dalam tablet-tablet yang diteliti.

No.	U		X			Parameter		
	mcg	%	mcg	%	Xi(%)	SD	KR(%)	KV(%)
1.			515,84	102,01				
2.			510,35	100,92				
3.	500	100	509,74	100,81	102,06	1,6447	2,06	1,61
4.			531,77	105,16				
5.			517,62	102,36				
6.			511,10	101,08				

$$\text{Ketelitian (KR)} = \frac{U - X_i}{U} \times 100\% = \frac{100 - 102,06}{100} \times 100\% = 2,06\%$$

$$\text{Ketepatan (KV)} = \frac{SD}{X_i} \times 100\% = \frac{1,6447}{102,06} \times 100\% = 1,16\%$$

Keterangan :

U = Kadar teoritis

X = Kadar yang diperoleh dari hasil percobaan

Xi = Kadar rata-rata yang diperoleh dari hasil percobaan

SD = Standar Deviasi

KR = Kesalahan Relatif

KV = Koefisien Variasi